

氏名(本籍地) 菊地隆太(茨城県)
 学位記および番号 博士(歯学), 甲 第352号
 学位授与の日付 平成28年2月15日
 学位論文題名 「マウス末梢神経切断後の一酸化窒素合成酵素(NOS)の発現」
 論文審査委員 (主査) 渡邊弘樹教授
 (副査) 伊東博司教授
 高田 訓教授

論文の内容および審査の要旨

【研究目的】末梢神経は切断後、切断端中枢側に脱分化、増殖したシュワン細胞が遊走し細胞塊をつくり、この細胞塊内を軸索が伸長することが判明している。

一方、一酸化窒素(NO)は神経伝達や免疫応答、血管系の調節などに関与しているが、NOを産生する酵素である一酸化窒素合成酵素(NOS)については、末梢神経切断後のシュワン細胞におけるNOSの発現については検討されていない。

本研究では、マウス坐骨神経切断後、切断端中枢側における軸索とシュワン細胞でのNOSの機能を解明する目的で、各種NOSの発現とその局在を免疫組織化学的に検索した。

【研究方法】実験動物には10週齢、雄性マウスを用いた。全身麻酔下で右側坐骨神経を切断し、切断後1日、7日、14日、21日目に坐骨神経を摘出し、凍結標本を作製した。薄切後、一次抗体として各種NOS抗体、S100タンパク抗体、PGP9.5抗体を用い、通法に従い免疫組織化学的染色を行い光学顕微鏡にて観察した。加えてnNOSがシュワン細胞または軸索に発現しているかを判別するため、nNOS抗体とS100タンパク抗体およびPGP9.5抗体を用い二重蛍光免疫染色を行い、蛍光顕微鏡にて観察した。

【研究結果】正常坐骨神経ではnNOSの陽性反応は神経組織の一部にみられ、二重蛍光免疫染色ではnNOSとPGP9.5を共発現する部位が散在していた。切断後1日における神経切断端中枢側周囲にはnNOS陽性を示す細胞がみられた。切断後7日ではnNOSの陽性反応は切断端周囲に散在する紡錘形の細胞にみられ、nNOSとS100タンパク

の共発現がみられた。切断後14日では切断端から伸長した細胞塊はnNOSの陽性反応がみられ、nNOSとPGP9.5の共発現がみられた。切断後21日では伸長した神経組織内にnNOS陽性細胞が散在しており、二重蛍光免疫染色ではnNOSとPGP9.5の共発現がみられた。

【考察】切断後7日では、切断端中枢側から再生する神経組織の先端に、nNOS陽性を示す細胞塊がS100タンパクと共発現していたことから、NOはシュワン細胞の増殖や遊走などに関与する可能性が伺われた。切断後14日では、切断端から伸びだした神経組織にnNOSとPGP9.5を共発現する部位が認められたため、軸索がnNOSを発現しNOを産生することが示された。切断後21日では14日と同様に、軸索でnNOSが発現し、その陽性を示す分布密度は14日に比べ増加していたことより、神経再生が進み、軸索が伸長するためにNOを産生する可能性が考えられた。

【結論】本研究結果から、神経切断後の末梢神経の再生過程にシュワン細胞の増殖、遊走および軸索の伸長にNOが働くことが明らかとなった。

本論文に関する一次審査が平成27年12月25日正午0時から行われた。申請者による研究概要の説明の後、質疑応答が行われた。各審査委員より以下の質問があった。1. 緒言：検索を行ったのはNOSであるが、NO産生とその機能を解明することを目的としていること理由について。2. 材料および方法：座骨神経切断後の検索の週齢を1, 7, 14, 21日とした理由について。3. 考察：シュワン細胞の基底膜に存在する接着性タンパクにNOがどのように作用するかについて。

いずれも申請者から適切な回答が得られた。なお、論文中の末梢神経切断後の再生課程におけるシグナル伝達に関与に関する表現の一部において難解な箇所があることを指摘し、文章の一部修正を求めた。また、図の訂正加筆等の指摘がされ、後日提出された論文では適切に修正がなされたことを各委員が確認した。

本論文は末梢神経切断後の再生課程において、nNOSがシュワン細胞に発現する新たな知見を示したものであり、今後の歯科医学の発展に寄与するものと考えられ、申請者は学位授与に値すると判定した。